پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۹ شمارهٔ۱، نیمهٔ اول ۱۳۹۷، صفحهٔ ۱۱۷-۹۹
Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 9, No. 1, 2018, p. 99-117
DOI: 10.22067/ijpr.v9i1.56269

اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی دو رقم نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) در شرایط تنش خشکی

سیامک فرجام[1*]، عادل سی‌وسه‌مرده[2]، حمداله کاظمی‌اربط[3]، مهرداد یارنیا[3] و اسعد رُخزادی[4]
۱- دانش‌آموخته دکترای تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی‌تبریز و مدرس مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان
۳- استاد گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
۴- استادیار گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۰۵

چکیده

در این پژوهش اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید سالیسیلیک بر صفات زراعی و فیزیولوژیک دو رقم نخود به‌صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹۰ در منطقه سنندج بررسی شد. تنش خشکی در چهار سطح شامل شاهد (آبیاری کامل)، تنش در مرحله رویشی (از ابتدای شاخه‌دهی تا گلدهی)، تنش در مرحله زایشی (از گلدهی تا رسیدگی) و تنش در هر دو مرحله رویشی و زایشی بود. ارقام نخود شامل ILC482 و محلی کردستان به‌عنوان فاکتور فرعی اول و ترکیبات تنظیم‌کننده رشد شامل اسید آسکوربیک، اسید سالیسیلیک و آب معمولی (شاهد) به‌صورت محلول‌پاشی به‌عنوان فاکتور فرعی دوم درنظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش عملکرد دانه، وزن خشک بوته، وزن۱۰۰دانه، محتوی نسبی آب برگ، پروتئین محلول برگ، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها وکلروفیل کل گردید. رقم ILC482 از محتوای نسبی آب برگ بیشتر و رقم کردستان از وزن۱۰۰دانه بالاتری برخوردار بود. اسید آسکوربیک سبب افزایش وزن خشک بوته، کلروفیل a، کارتنوئیدها و کلروفیل کل گردید. کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش کلروفیل b و پروتئین محلول برگ در شرایط تنش کامل گردید. وزن خشک بوته و محتوی نسبی آب برگ تحت تأثیر مواد تنظیم‌کننده رشد قرار نگرفتند. با توجه به نتایج این تحقیق رقم ILC482 از لحاظ عملکرد دانه نسبت به رقم کردستان برتری داشت و تحمل بیشتری به تنش خشکی نشان داد. اسید آسکوربیک در افزایش عملکرد دانه، وزن خشک بوته، رنگیزه‌های فتوسنتزی وحفظ محتوای آب برگ، نقش بیشتری را در آزمایش داشت.

واژه های کلیدی: پروتئین، عملکرد دانه، کارتنوئیدها، کلروفیل، مواد تنظیم‌کننده رشد، نخود

مقدمه

خشکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محیطی است که تولید محصولات زراعی را در مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت تأثیر قرارداده و باعث کاهش تولید می‌شود (Ehdaie & Waines, 1993). حبوبات، پس از غلات دومین منبع مهم غذایی انسان است. در بین حبوبات، نخود از لحاظ سطح زیرکشت و تولید، پس از لوبیا و نخودفرنگی در مقام سوم قرار دارد (Jalota *et al*., 2006). کاهش عملکرد نخود ناشی از تنش خشکی در دنیا تقریباً حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد برآورد شده است (Ahmad *et al*., 2005). Nayyar (2006) با انجام آزمایشی گزارش کرد که پروتئین محلول برگ در شرایط تنش در نخود کاهش می‌یابد. از طرفی گزارش شده است که در شرایط تنش شدید خشکی، میزان پروتئین‌های محلول برگ افزایش یافت (Black & Prithard, 2002). Jamshidi Moghadam *et al*, (2007) گزارش کردندکه تنش خشکی باعث کاهش مقدارکلروفیل در گیاه نخود شد. گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی محتوای هر دوکلروفیل a و b تغییر می‌کنند.(Farooq *et al*., 2009) به‌نظر می‌رسد که کاروتنوئیدها در تحمل گیاهان به تنش خشکی نقش اساسی بازی می‌کنند و در این رابطه به گیاهان کمک می‌نمایند (Jaleel *et al*., 2009). اسید آسکوربیک یک ترکیب آنتی اکسیدانتی قوی با وزن مولکولی کم و محلول درآب بوده که نقش عمده‌ای را در خنثی‌کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد و غیرسمی‌کردن پراکسید هیدروژن بازی می‌کند. (El-Tayeb,

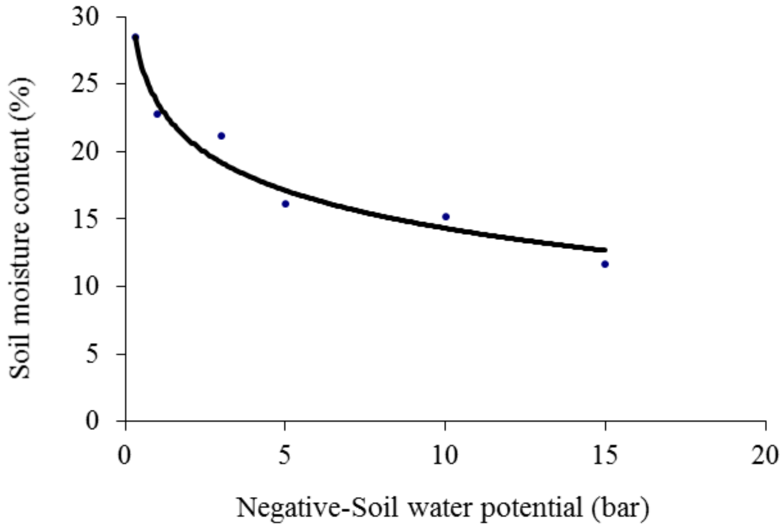
*نویسنده مسئول: siamakfarjam@yahoo.com

Zeid *et al*, (2008) نتـایج مطالعـات (2005 نشـان داد کـه کاربرد اسید اسـکوربیک در سـطح ۱۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر در گندم در شرایط کمبـود آب سـبب کـاهش اثـرات سـوء تـنش خشکی می‌شود. Sheteawi (2007) بـا انجـام پژوهشـی بیـان نمود که اسید آسکوربیک سبب بهبود محتوای کلروفیل b برگ سویا در شرایط تنش کم آبی گردید.

اسید سالیسیلیک یـا ارتـو هیدروکسـی بنزوئیـک اسـید (SA) از ترکیبات فنولی است که در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود دارد و در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهـان نقـش دارد (Raskin, 1992). اسید سالیسیلیک توسط ریشه تولید و در تنظیم فرآیندهای رشد، تکامل، جذب یون و فتوسنتز نقـش دارد (El-Tayeb, 2005). نتایج مطالعات مختلـف نشـان داده است که اسید سالیسیلیک نقش مؤثر و مثبتی در رشـد و نمـو نخـود دارد (Maddah *et al*., 2006; Gad El-Hak *et al*., 2012). اسید سالیسیلیک پیام‌رسانی قوی است که پاسخ‌هـای ویژه‌ای به تنش‌های محیطی از جمله خشکی می‌دهد (Papova *et al*., 2009). اسید سالیسیلیک با خاصـیت آنتـی‌اکسـیدانتی خـود از پـروتئین‌هـای گیـاه در مقابـل صـدمات اکسـیداتیوها محافظت می‌کند (Miguel *et al*., 2006). با توجه به ایـن‌کـه تنش آبـی از عوامـل محـدودکننـده در تولیـد گیاهـان زراعـی محسوب می‌شود، بنابراین تحقیق روی مکانیسم تحمل گیاهان زراعی به کم‌آبی حائز اهمیت اسـت. در ایـن میـان، اسـتفاده از آنتی‌اکسیدانت‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشـد گیـاهی در بهبـود و کاهش آثار کم‌آبی در این گیاهان سودمند است. هـدف از ایـن تحقیـق، بررسـی نقـش اسیدآسـکوربیک بـه‌عنـوان یـک آنتی‌اکسیدان و اسیدسالیسیلیک بـه‌عنـوان یـک شـبه‌هورمـون مرتبط با مقاومت به تنش خشکی در کاهش خسـارت ناشـی از تنش خشکی بر برخی خصوصیات زراعی و فیزیولوژیکی دو رقم زراعی نخود بود.

مواد و روش‌ها

این آزمـایش در بهـار سـال ۱۳۹۰ در مزرعـه تحقیقـاتی ایستگاه تحقیقـات کشـاورزی و منـابع‌طبیعـی گریـزه سـنندج به‌صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامـل تصادفی در چهار تکرار به اجـرا درآمـد. درایـن آزمـایش تـنش خشکی در چهار سطح شامل آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، قطع آبیاری پس از ظهور اولین شاخه جانبی تا ظهور ۵۰ درصد گـل ها، قطع آبیاری از مرحله ظهور۵۰درصد گل‌ها تـا رسـیدگی، و قطـع آبیـاری پـس از ظهـور اولـین شـاخه جـانبی تـا مرحلـه رسیدگی، به کرت‌های اصلی اختصاص یافتنـد. رقـم بـه‌عنـوان فـاکتور فرعـی اول شـامل دو رقـم نخـود ILC482 و محلـی کردستان و مواد تنظیم‌کننده رشد به‌عنوان فـاکتور فرعـی دوم درکرت‌های فرعی قرار گرفتنـد. ترکیبـات تنظـیم‌کننـده رشـد شامل سه سطح اسیداسکوربیک و اسیدسالیسیلیک به‌ترتیب بـا مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر و آب معمـولی (شـاهد) بودند که به‌صورت محلول‌پاشی به میزان نیم لیتـر در هـر متـر مربع توسط سمپاش پشتی همزمان بـا مرحلـه ظهـور سـومین شاخه جانبی اعمال شدند. بذور قبل از کاشت با استفاده از سـم بنومیل دو در هزار ضـد عفـونی شـدند. هرکـرت اصـلی شـامل ۲۴ردیف ۹متری با فاصله ۲۵سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف ۱۰سانتی‌متر بودند. عملیات کاشت در ۲۰ فروردین ۱۳۹۰ انجـام شد. میزان بارندگی در مجموع در پنج روز پس از کاشت معادل ۱۴/۹ میلی‌متر بود که رطوبت لازم بـرای جوانـه‌زنـی را در هـر چهار تیمار تـنش رطـوبتی فـراهم نمـود. پـس از آن در تیمـار آبیاری مطلـوب بـا تـوزین روزانـه نمونـه‌هـای خـاک تـا عمـق ۳۰سانتی‌متری و در صورت تخلیه ۵۰ درصد آب سهل‌الوصـول خاک آبیاری تا رسیدن محتوای آب خاک به حد ظرفیت زراعی تا عمق۵۰سانتی‌متری انجام شد. لازم به ذکر است کـه قبـل از اجرای آزمایش منحنی رطوبتی خـاک تعیـین گردیـد. بـه ایـن ترتیب که با گرفتن نمونه‌هایی از خاک مزرعه و تعیین پتانسیل آب در نمونه خاک و سپس تعیین میزان رطوبت موجود در آن، رابطه رگرسیونی بـین دو متغیـر پتانسـیل آب خـاک و میـزان رطوبت خاک به دست آمد (شکل ۱). آبیاری کلیه کـرت‌هـا بـه روش آبیاری قطره‌ای انجام شد. هرکرت مجهز به شـیر قطـع و وصل مجزا بود. به‌منظـور یکنـواختی آبیـاری کلیـه واحـدهـای آزمایشی از کنتورآب استفاده گردید. قبل از انجام آبیاری جهت تعیین میزان آب مورد نیاز هر کـرت، درصـد رطوبـت خـاک از روش رطوبت وزنی تعیین گردید. در کرت‌های تحت تنش برای جلوگیری از ورود باران به داخل کرت آزمایشی بر اساس پـیش بینی‌های هواشناسی قبـل از هـر بـارش از پوشـش پلاسـتیکی شفاف با ارتفاع یک متر برروی کرت‌هـا اسـتفاده شـد و بعـد از پایان بارندگی جهت جلـوگیری از گرمـازدگی بوتـه‌هـای نخـود تحت آزمایش، پوشش از روی کرت‌های موردنظر برداشته شـد. به‌منظور سبزشدن یکنواخت و استقرار بوته‌ها تـا مرحلـه ظهـور اولین شاخه جانبی، همه کرت‌های آزمایشی مربوط به هر چهار تیمار شاهد و تنش به‌طـور یکسـان آبیـاری گردیدنـد. مجمـوع میــزان بارنــدگی و آب آبیــاری در طــی اجــرای آزمــایش در تیمارهای شاهد و تحت تنش خشکی در مرحله رشـد رویشـی، زایشی و تنش کامل به‌ترتیب ۳۲۴، ۲۰۱/۲، ۲۳۳/۷ و ۹۶ میلی متر بود.



شکل ۱- منحنی رطوبتی رابطه درصد رطوبت خاک با پتانسیل آب خاک

Fig. 1. Relationship between soil moisture content and soil water potential

برای تعیین عملکرد دانه از هر واحد آزمایشی بوته‌های نخود در سه مترمربع برداشت و عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و وزن۱۰۰دانه با استفاده از آن تعیین شد. از تقسیم‌کردن عملکرد بیولوژیک بر تعداد بوته برداشت‌شده، وزن خشک تک‌بوته تعیین گردید. برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک از برگ‌های تازه از ۱۰ بوته به‌طور تصادفی در دو مرحله، یک بار در مرحله رویشی (زمان ظهور آخرین شاخه جانبی) و یک بار در مرحله زایشی (ظهور۱۰۰درصدی غلاف‌ها) نمونه‌های پنج گرمی تهیه و بلافاصله در نیتروژن مایع با برودت ۱۹۵- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به فریزر با برودت ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری شدند و پس از آن صفات موردنظر اندازه‌گیری شد. به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، پس از محاسبه وزن تر (FW)، وزن اشباع (TW) و وزن خشک (DW) برگ‌ها با دقت یک‌هزارم گرم، با استفاده از رابطه زیر محتوای نسبی آب برگ تعیین شد (Sehofeld *et al*., 1988):

RWC (%) = [(FW- DW) / (TW-DW)] *100

به‌منظور اندازه‌گیری پروتئین محلول برگ از روش Bradford (1976) استفاده شد. برای استخراج پروتئین، ۰/۵گرم از نمونه‌های برگی درهاون حاوی ۵میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۱۰درصد، ۰/۱ نرمال با pH معادل ۷/۴ در بستر یخی به‌صورت هموزن مخلوط و سپس به لوله‌های سانتریفوژ منتقل گردید. این نمونه‌ها به مدت ۲۰دقیقه در دمای ۴درجه سانتی‌گراد با ۱۵۰۰۰دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژکردن محلول روشناور به ۱۰عدد ویال کوچک به‌منظور اندازه‌گیری غلظت پروتئین منتقل شد و در فریزر با دمای ۴۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول به ۹۹۰میکرولیتر از محلول روشناور نمونه‌های برگ ۱۰میکرولیتر محلول برادفورد اضافه شد و میزان جذب نور با توجه به مقدار پروتئین این نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با توجه به منحنی استاندارد در طول موج ۵۹۵نانومتر تعیین شد. به‌منظور تعیین غلظت پروتئین نمونه‌های مورد بررسی، منحنی استاندارد پروتئین شاهد از آلبومن سرم گاوی تهیه شد و با توجه به این منحنی استاندارد و میزان جذب نور درطول موج ۵۹۵نانومتر به‌وسیله نمونه‌های پروتئینی، غلظت پروتئین نمونه‌ها تعیین شد. در نهایت مقدار پروتئین با توجه به نسبت وزن خشک به وزن تر به‌صورت غلظت بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه شد.

(۱۰۰۰×وزن نمونه)/ (میزان پروتئین محاسبه شده×حجم نمونه) =پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)

به‌منظور سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها از روش Sukran *et al*, (1998) و از استون۱۰۰درصد برای استخراج استفاده شد. میزان جذب نمونه‌های استخراجی به‌وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و۴۷۰نانومتر قرائت شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها بر اساس روابط زیر محاسبه شده و بر حسب $mg\ g^{-1}FW$ گزارش شد.

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = 11.75\ A_{662} - 2.350\ A_{645}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = 18.61\ A_{645} - 3.960\ A_{662}$$

$$\text{Carotenoids (mg/g)} = (1000\ A_{470} - 2.270\ C_a - 81.4C_b)/227$$

در فرمول فوق A نشان‌دهنده میزان جذب در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰نانومتر می‌باشد.

در پایان داده‌های حاصل از آزمایش تحت عملیات تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS version 9.1 قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه نشان داد که اثر تنش خشکی و نیز اثر متقابل سه‌گانه تنش در رقم در مواد تنظیم‌کننده رشد به‌ترتیب در سطوح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول۱). بیشترین عملکرد دانه درتیمار آبیاری کامل به مقدار ۹۵۱کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. Soltani *et al,* (2001) گزارش کردند که عملکرد نخود تحت شرایط تنش خشکی نسبت به آبیاری منظم ۶۷درصد کاهش نشان داد. تنش در مرحله رشد رویشی عملکرد دانه را ۵۳درصد، در مرحله رشد زایشی ۶۳درصد و در تیمار تنش کامل ۶۸درصد نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۲). این موضوع نشان می‌دهد که تنش در مرحله رشد زایشی بیشترین تأثیر را بر عملکرد نخود دارد. کاهش عملکرد دانه نخود در اثر تنش خشکی توسط Shaaban *et al,* (2011) نیز گزارش شده است.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات برخی صفات زراعی و فیزیولوژیک دو رقم نخود در برابر اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسیدهای سالیسیلیک واسید آسکوربیک

Table 1. Analysis of variance of the effects of drought stress, salicylic and ascorbic acids application on the physiological traits of two chickpea cultivars

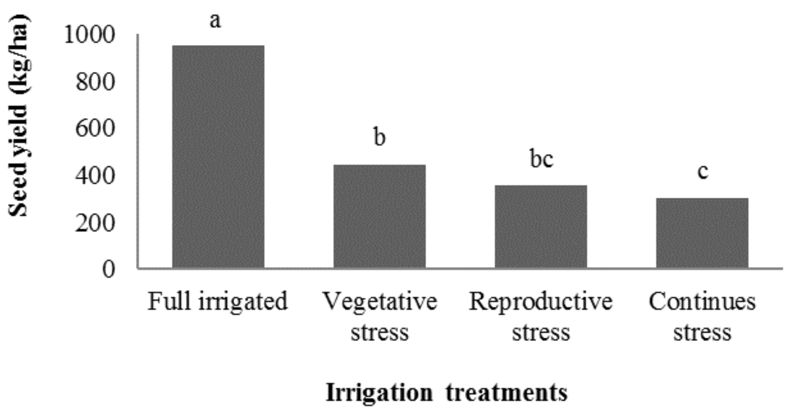
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		عملکرد دانه Seed Yield	وزن۱۰۰دانه Weight of hundred seeds	وزن خشک بوته Biomass/Plant	محتوای نسبی آب برگ RWC
تکرار Replication	3	24029.4 ^{ns}	454.79 ^{ns}	171.91 ^{ns}	336.8
تنش خشکی Stress (S)	3	2114892.9**	3654.89*	2368.8**	2407.7**
خطای کرت اصلی Error a	9	27450	580.12	146.55	132.1
رقم Cultivar (C)	1	48668.4^{ns}	585.21**	67.6^{ns}	730.8*
تنظیم‌کننده رشد Plant growth regulator (P)	2	39881.7^{ns}	157.44^{ns}	285*	37.2 ^{ns}
تنش× رقم S×C	3	13982.6 ^{ns}	100.68 ^{ns}	74 ^{ns}	134.3 ^{ns}
تنش× تنظیم‌کننده رشد S×P	6	52989.7^{ns}	63.56^{ns}	121.52^{ns}	140.9 ^{ns}
رقم× تنظیم‌کننده رشد C×P	2	60763.4^{ns}	188.50^{ns}	36.91^{ns}	20.8 ^{ns}
تنش× رقم ×تنظیم‌کننده رشد S×C×P	6	69380.3*	48.68^{ns}	58.79^{ns}	35.7 ^{ns}
خطای کرت فرعی Error b	60	30026.9	86.16	92.22	113.5
ضریب تغییرات CV%		23.91	19.26	17.70	11.48

ns: غیر معنی‌دار، ** و *: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns ,** and *: Non significant and significant at 1 and 5% levels, respectively.

در شرایط آبیاری کامل، میزان فتوسنتز و تولید مواد پرورده افزایش یافته در نتیجه از طریق افزایش سرعت پُرشدن دانه، وزن دانه و در نهایت عملکرد آن افزایش می‌یابد (Rezaeyan-zadeh, 2008).

بین دو رقم مورد بررسی از لحاظ عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). میانگین عملکرد دانه رقم ILC482 در تیمار آبیاری ۹۸۵ کیلوگرم در هکتار و در رقم کردستان ۸۷۶کیلوگرم در هکتار بود. اما در شرایط تنش کامل عملکرد رقمILC484 به میزان ۳۳۴کیلوگرم در هکتار رسید که در مقایسه با عملکرد رقم کردستان (۲۸۲کیلوگرم در هکتار) ۱۵/۶درصد افزایش نشان می‌دهد. تحت تأثیر مصرف اسیدآسکوربیک عملکرد رقم ILC482 به۱۲۷۰کیلوگرم در هکتار در شرایط آبیاری رسید که به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار بدون محلول‌پاشی (۷۷۴کیلوگرم در هکتار) افزایش نشان می‌دهد (جدول ۲). گزارش شده است که محلول‌پاشی برگی اسید آسکوربیک در شرایط کمبود آب به‌طور معنی‌داری عملکرد دانه نخود را افزایش می‌دهد، چرا که اسید آسکوربیک به‌عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان می‌تواند گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو ناشی از کمبود آب محافظت کند (Zarghamnejad *et al.*, 2014).



شکل۲- مقایسه میانگین عملکرد دانه نخود با اعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 2. Mean comparison of chickpea seed yield affected by drought stress and irrigation treatments

(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

جدول۲- میانگین عملکرد دانه با مصرف اسید آسکوربیک (AA)، اسیدسالیسیلیک (SA) و بدون محلول‌پاشی (Control) در دو رقم نخود ILC482 و کردستان در تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

Table 2. Mean of seed yield in two chickpea cultivars of ILC482 and Kurdistan affected by ascorbic acid (AA), Salicylic acid (SA) applications in drought stress and irrigation

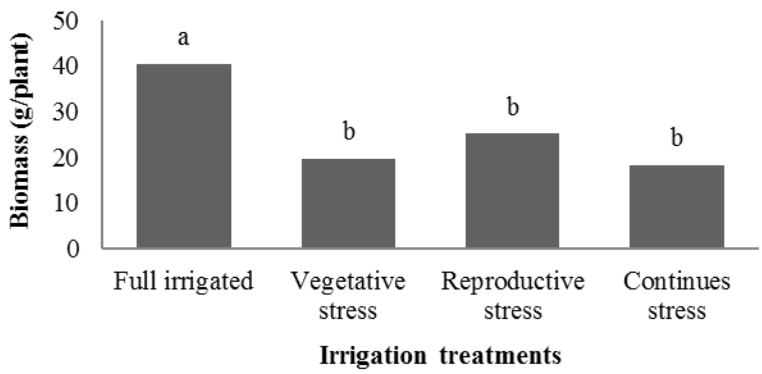
تیمار Treatment	آبیاری کامل (شاهد) Full irrigated		تنش رویشی Vegetative stress		تنش زایشی Reproductive stress		تنش کامل Continues stress	
	ILC482	Kurdistan	ILC482	Kurdistan	ILC482	Kurdistan	ILC482	Kurdistan
بدون محلول‌پاشی Control	773.8cd	926.1ab	495.1ef	437.7ef	249.5f	320.1ef	320.8ef	251.8f
اسید سالیسیلیک SA	911.4bc	775.1bcd	428ef	449.2ef	419.5ef	338ef	394ef	323.5ef
اسید آسکوربیک AA	1270a	927.3bcd	566.1ef	326.1ef	362.7ef	338.8ef	288ef	271.6ef
متوسط Average	985	876.1	496.4	404.3	343.9	332.3	334.2	282.3

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means with different letters in each column indicate significant differences at P ≤ 0.05 according to Duncan's test.

وزن خشک بوته

اثرات دو عامل تنش خشکی و تنظیم‌کننده رشد به‌ترتیب در سطوح احتمال ۱ و ۵درصد بـر وزن خشـک بوتـه معنـی‌دار بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر تیمارهای تـنش بـر وزن خشک تک بوته نشان می‌دهد که بیشترین کاهش وزن خشـک بوته مربوط به تیمار تنش کامل بود. وزن خشک بوته با اعمـال تنش خشکی در مرحله رشد رویشی کمتـر از اعمـال تـنش در مرحله رشد زایشی بود (شکل۳). رشد نخود به‌صورت نامحـدود است، با این وجود بیشترین رشد شاخه و برگ‌های آن تا قبل از گلدهی صورت می‌پذیرد. بنابراین قطع آبیاری در مرحلـه رشـد رویشی وزن خشک بوتـه را نسـبت بـه سـایر تیمارهـای تـنش بیشتر کاهش داد. مقایسه میانگین مواد تنظیم‌کننـده رشـد بـر وزن خشک بوته (شکل۴) نشان داد کـه بیشـترین وزن خشـک بوته با مصرف اسید آسـکوربیک حاصـل شـد. اسیداسـکوربیک تأثیرگسترده‌ای بر فرآینـدهای فیزیولـوژیکی ازجملـه بیوسـنتز دیواره سلولی، متابولیت‌ها، فیتوهورمون‌ها، تقسیم سلولی و رشد دارد. همچنین اسید اسکوربیک در رفع تنش‌های اکسـیداتیوی محدوده غشاء کلروپلاست و میتوکنیدری نقش مهمـی‌دارد کـه مجموعه این تأثیرات می‌تواند موجب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و در نتیجه افزایش وزن خشک آن گـردد (Barth *et al.*, 2006). بر اساس گزارش‌هـای Shalata & Neumann, (2001) و Al-Hakimi (2001) اسیدآسـکوربیک در تیمـار بـدون تنش به‌طور معنی‌داری وزن خشک بوته در گندم و گوجه‌فرنگی را افزایش داد.



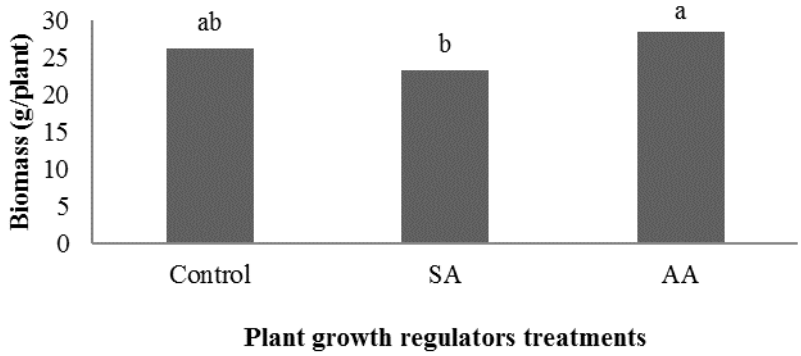
شکل۳- مقایسه میانگین وزن خشک بوته نخود با اعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 3. Mean comparison of chickpea biomass affected by drought stress and irrigation treatments

Different letters indicate significant differences at P ≤ 0.05 according to Duncan's test.



شکل۴- مقایسه میانگین وزن خشک بوته نخود با مصرف اسید سالیسیلیک (SA)، اسید آسکوربیک (AA) و بدون محلول‌پاشی

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

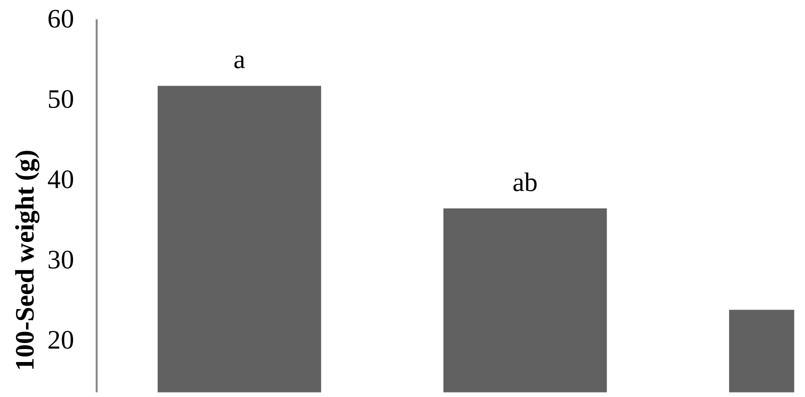
Fig. 4. Mean comparison of Biomass affected by salicylic acid (SA) and ascorbic acid (AA) applications

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

وزن۱۰۰دانه

نتایج تجزیه واریانس گویای تأثیر معنی‌دار تیمارهای آبیاری و رقم بر وزن۱۰۰دانه بود (جدول۱). مقایسه میانگین تیمارهای متفاوت آبیاری در وزن۱۰۰دانه نشان داد که بیشترین وزن۱۰۰دانه متعلق به تیمار آبیاری کامل است (شکل۵). تنش در مرحله رویشی ۵ /۲۹درصد و در مرحله زایشی ۵۴درصد وزن۱۰۰دانه را نسبت به شاهد کاهش داد. در حالی که اعمال تنش دردو مرحله رویشی و زایشی، موجب کاهش ۴۹درصدی وزن۱۰۰دانه نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج این تحقیق نشان داد که وزن۱۰۰دانه تحت تأثیر تنش خشکی در مرحله رشد زایشی کاهش بیشتری یافت. از نتایج این تحقیق می‌توان چنبن استنباط کرد که قطع آبیاری در مرحله رشد زایشی نخود سبب کوتاه‌شدن دوره پُرشدن دانه‌ها شده، بنابراین انتقال مجدد مواد ذخیره‌ای و همچنین مواد فتوسنتزی جاری به دانه‌ها کمتر صورت گرفته است. محدودیت رطوبت درزمان گلدهی و غلافدهی موجب کاهش انتقال مواد فتوسنتزی و در نتیجه چروک‌شدن دانه می‌شود (Ullah *et al*., 2002).

Mehrabain moghaddam *et al*, (2011) گزارش نمودند که وزن۱۰۰۰دانه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. مطالعه رابطه بین صفات وزن۱۰۰دانه و عملکرد دانه نشان داد که اعمال تنش خشکی در مرحله رشد زایشی به‌طور معنی‌داری وزن۱۰۰دانه را کاهش و سبب پایین آمدن مقدار عملکرد دانه گردید. بین میانگین ارقام ILC482 و کردستان در وزن۱۰۰دانه تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری که وزن۱۰۰دانه در رقم محلی کردستان ۱۳درصد بیشتراز رقم ILC482 بود. به‌نظر می‌رسد که رقم کردستان از سرعت بالاتر و دوره طولانی‌تر پُرشدن دانه نسبت به رقم ILC482 برخوردار بوده است. Yousefi *et al*, (1996) با انجام پژوهشی بیان نمودند که وزن۱۰۰دانه توده‌های مختلف نخود، با یکدیگر تفاوت دارند. نتایج تجزیه واریانس صفات، حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار مواد تنظیم‌کننده رشد بر وزن۱۰۰دانه بود (جدول ۱). برخی پژوهشگران در مطالعات خود دریافتند که وزن دانه در اثر تیمار با اسید سالیسیلیک بدون تغییر مانده (Sainio & Rajala, 2001) و یا این که کاهش می یابد (Sliman *et al*., 1994). احتمالاً علت این امر آن است که در شرایط تنش خشکی و بدون تنش، اسید سالیسیلیک تعادل هورمونی را در گیاه تغییر می‌دهد، به‌طوری که در شرایط تنش باعث افزایش اکسین و اسید آبسیسیک و موجب کاهش سیتوکنین می‌گردد (Shakirova *et al*., 2003).



شکل ۵- مقایسه میانگین وزن۱۰۰دانه نخود با اعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

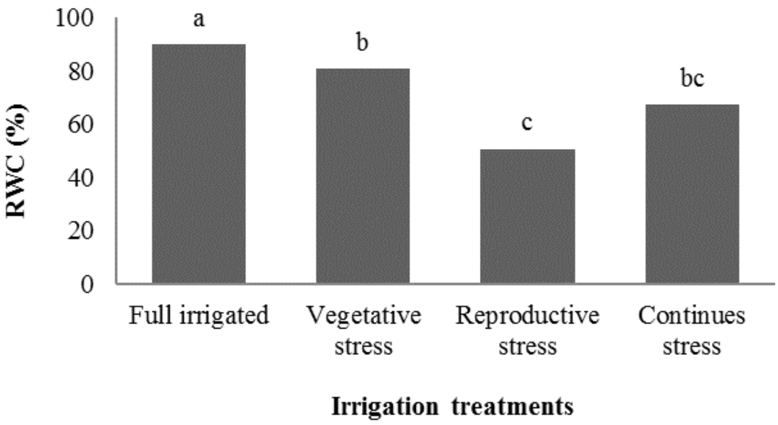
میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 5. Mean comparison of chickpea 100-seed weight affected by drought stress and irrigation treatments levels
(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)
Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

محتوای نسبی آب برگ

مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف تنش بر محتوای نسبی آب برگ نشان داد که تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ را کاهش داده است. نتایج این تحقیق نشان داد که محتوای نسبی آب برگ در تیمار تنش‌زایشی بیشتر از تنش رویشی کاهش یافت. به‌نظر می‌رسدکه در مرحله رشد زایشی،

با توجه به پیرشدن گیاه، کنترل روزنه‌ها کاهش یافته و هدررفت آب با توجه به تطابق این مرحله با دوره گرما، افزایش یافته است، چرا که در زراعت بهاره نخود دیم در منطقه غالباً مرحله زایشی گیاه با شدت‌گرفتن دمای روزانه مواجه می‌شود (شکل۶). محققان در مطالعه‌ای بر روی ارقام نخود تحت شرایط تنش خشکی Kumar Patel *et al,* (2011) بیان نمودند که میزان رطوبت نسبی برگ کاهش یافت. بین ارقام ILC482 و کردستان در محتوای رطوبت نسبی برگ تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که محتوای رطوبت نسبی برگ رقم ILC482، ۱۷درصد بیشتر از رقم کردستان بود، اما مواد تنظیم‌کننده رشد تأثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبت نسبی برگ نداشتند (جدول ۱). بر اساس نتایج این تحقیق با کاهش محتوای نسبی آب برگ در تیمارهای تنش خشکی، عملکرد دانه، وزن خشک بوته، وزن۱۰۰دانه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز کاهش یافت. بیشترین کاهش محتوای نسبی آب برگ در تیمار تنش در مرحله رشد زایشی اتفاق افتاد که سبب کاهش عملکرد دانه، وزن۱۰۰دانه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی با اعمال تنش خشکی در مراحل رشد زایشی و تنش کامل نسبت به شاهد گردید.



شکل۶- مقایسه میانگین محتوای رطوبت نسبی برگ نخود تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

(شاهد:آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل).

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 6. Mean comparison of chickpea leaf relative water content affected by drought stress and irrigation treatments levels
(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)
Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

پروتئین محلول برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش در رقم در مواد تنظیم‌کننده رشد بر غلظت پروتئین‌های محلول برگ معنی‌دار بود (جدول۳). نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که میزان پروتئین تحت تأثیر تنش خشکی در مرحله رویشی نسبت به شاهد کاهش چشمگیری داشت که نشانه تأثیر تنش خشکی بر ممانعت از تولید پروتئین‌های محلول برگ و یا افزایش تجزیه این پروتئین‌ها است. در شرایط تنش خشکی در مرحله رشد زایشی نیز میزان پروتئین‌های محلول درمقایسه با شاهد کاهش یافت، اما با افزایش مدت و شدت تنش در تیمار تنش کامل، غلظت پروتئین محلول در برگ افزایش یافت که ممکن است ناشی از تجمع این پروتئین‌ها جهت تنظیم اسمزی و یا به‌واسطه عدم مصرف پروتئین‌ها جهت رشد سلول باشد (شکل۷). بنابراین میزان پروتئین‌های محلول برگ زیاد شدند. Black & Prithard (2002) با انجام آزمایشی به نتایج مشابهی دست یافتند. کاهش غلظت پروتئین‌های محلول در برگ برنج در تنش خشکی نیز قبلاً به‌وسیله Yang *et al,* (2002) و Xie *et al,* (2004) گزارش شده است. بین دو رقم مورد بررسی از لحاظ محتوای پروتئین در هر دو شرایط شاهد و تنش خشکی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط تنش کامل در رقم کردستان میزان پروتئین محلول را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل۸). این

روند افزایشی با شدت کمتر در شرایط تنش خشکی در مرحلـه رشد زایشی نسبت به رقم ILC482 نیـز مشـهود بـود. غلظـت پروتئین محلول برگ نخود با مصرف اسید سالیسیلیک در رقم ILC482 در کلیه تیمارهای مورد بررسی به‌جز تیمار در مرحله تنش‌زایشی افزایش یافت. این روند نشان می‌دهـد کـه یکـی از تغییرات عمده بیوشیمیایی که در اثر کاهش رطوبـت خـاک در گیاهان زراعی رخ می‌دهد، تغییر در میزان تولید پـروتئین‌هـای گیاهی در جهت تجزیه و یا جلوگیری از سنتز بعضـی از آنهـا و نیز ساخت دسته کوچکی از پروتئین‌های مخصوص تنش اسـت (Mansouri- Far *et al.*, 2004). بر اساس گـزارش Beltagi (2008) مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط کمبود آب سـبب افزایش پروتئین محلول برگ نخود گردیـد. El-Tayeb *et al*, (2005) با انجام پژوهشی بیان نمودند که تنش خشـکی سـبب کاهش غلظت پروتئین محلول در برگ گندم نسـبت بـه شـاهد گردیـد. آن‌هـا همچنـین گـزارش نمودنـد کـه مصـرف اسـید سالیسـیلیک در گیاهـانی کـه در شـرایط تـنش خشـکی قـرار داشتند، موجب افزایش غلظت پروتئین برگ آنها شد.

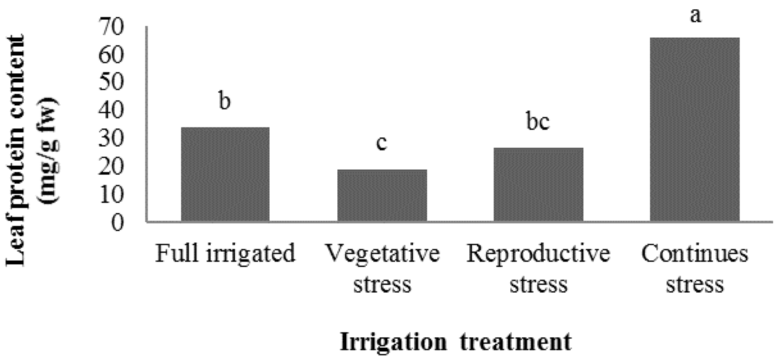
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات برخی صفات فیزیولوژیک دو رقم نخود در برابر اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسیدهای سالیسیلیک واسید آسکوربیک

Table 3. Analysis of variance of the effects of drought stress, salicylic and ascorbic acids application on the physiological traits of two chickpea cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		پروتئین Protein content	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئیدها Carotenoids	مجموع رنگیزه‌ها Total Pigments content
تکرار Replication	3	1110.28ns	36.40ns	3.48ns	218.96 ns	474.41 ns
تنش خشکی Stress (S)	3	4357.84**	**122.41	33.31**	2577.06**	**44441.55
خطای کرت اصلی Error a	9	737.25	11.45	3.79	198.40	212.04
رقم Cultivar (C)	1	33.61ns	67.59ns	0.80	159.11ns	397.52 ns
تنظیم‌کننده رشد Plant growth Regulators (P)	2	524.27ns	*78.75	7.47ns	*1270.24.8	*1890.27
تنش× رقم S×C	3	357.67 ns	29.55 ns	1.97 ns	137.88 ns	127.52 ns
تنش× تنظیم‌کننده رشد S×P	6	365.69 ns	7.59ns	10.53ns	223.38ns	218.70ns
رقم× تنظیم‌کننده رشد C×P	2	1745.02*	61.44ns	18.68*	768.40ns	1024.93ns
تنش× رقم ×تنظیم‌کننده رشد S×C×P	6	1003.89*	23.03ns	1.78ns	468.95ns	577.32ns
خطای کرت فرعی Error b	60	338.77	22.17	5.43	341.84	461.57
ضریب تغییرات CV%		15.20	15.66	14.95	11.94	19.75

ns: غیر معنی‌دار، ** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد.

ns ,** and *: Non significant and significant at 1 and 5% levels, respectively.

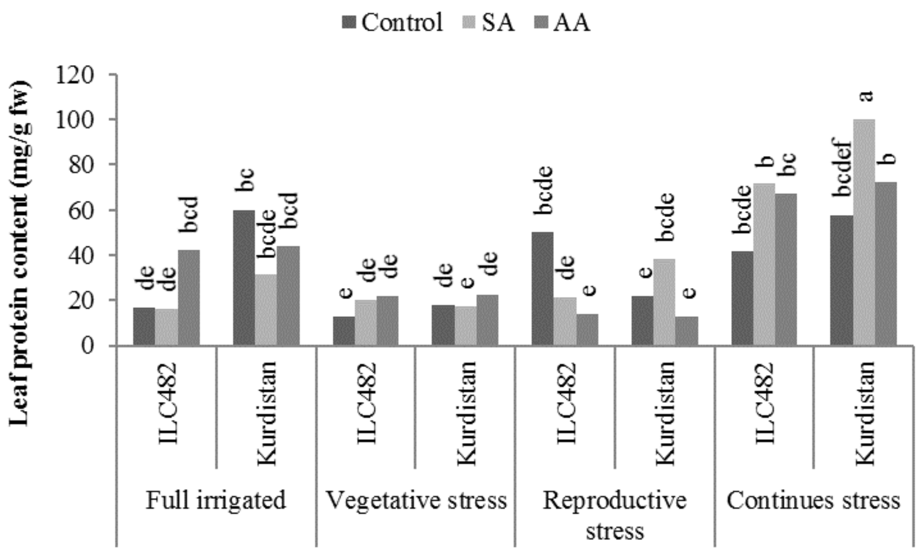


شکل۷- مقایسه میانگین میزان پروتئین برگ با اعمال سطوح آبیاری و تنش خشکی

(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 7. Mean comparison of protein content affected by drought stress and irrigation treatments levels
(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)
Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.



شکل۸- مقایسه میانگین محتوای پروتئین‌های محلول برگ نخود با مصرف اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک و بدون محلول‌پاشی در دو واریته نخود ILC482 و کردستان در تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

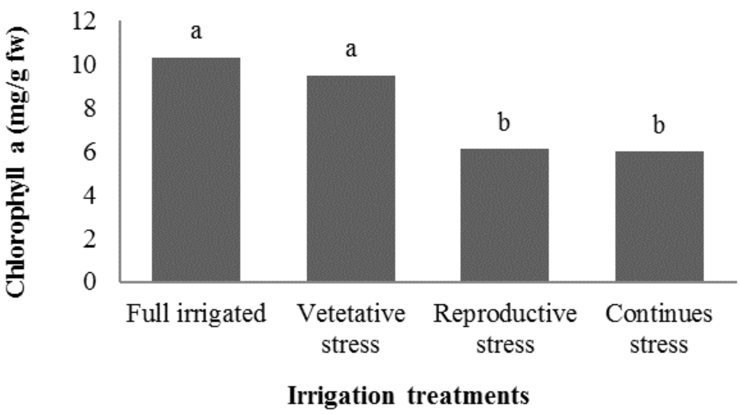
(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 8. Mean comparison of protein content in two chickpea cultivars of ILC482 and Kurdistan affected by Salicylic acid (SA) application in drought stress and irrigation levels
(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)
Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی گویای تأثیر معنی‌دار تنش خشکی بر غلظت کلروفیل a و b درسطح احتمال ۱درصد بود (جدول۳). میانگین‌های مقادیر این دو رنگیزه (a وb) تحت تیمارهای تنش و بدون تنش در شکل‌های ۹ و۱۱ نشان داده شده‌اند که بیانگر آن است که بیشترین غلظت کلروفیل a و b در تیمارهای آبیاری و اعمال تنش خشکی در مرحله رشد رویشی به‌دست آمدند. وقوع تنش خشکی میزان سطح برگ را در اثر کاهش اندازه سلول‌ها تقلیل می‌دهد. بنابراین در طی بروز تنش خشکی در مرحله رشد رویشی به‌دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن و سطح برگ، میزان کلروفیل افزایش می‌یابد (Nonami & Matthewse, 1997). تیمارهای تنش خشکی در مرحله رشد زایشی و تنش کامل مقادیر کلروفیل a و b را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دادند. کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است که در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز به‌وجود آید، زیرا این آنزیم موجب تجزیه مولکول کلروفیل می‌گردد (Ahmadi & Siosemardeh, 2004). از نتایج حاصل از این آزمایش می توان استنباط کرد که کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در اثرتنش خشکی در مرحله رشد زایشی، می‌تواند ازطریق کاهش مواد فتوسنتزی، عملکرد دانه و وزن۱۰۰دانه را تحت تأثیر قرار دهد. محققان دیگر، چنین واکنش برگ‌ها در محتوای کلروفیل را قبلاً گزارش نموده‌اند (Kulshreshtha *et al*., 1987). بین دو رقم مورد بررسی از لحاظ مقدار کلروفیل a در هر دو شرایط شاهد و تنش خشکی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، اما اثر مواد تنظیم‌کننده رشد بر مقدار کلروفیل a در سطح احتمال ۵درصد معنی‌دار گردید (جدول۳)، به‌طوری که با مصرف اسیدهای سالیسیلیک و آسکوربیک مقدار کلروفیلa درمقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل۱۰). گزارش شده است که مصرف اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی درسویا (Kim *et al*., 2007) و گندم (Iqbal & Ashraf, 2006) گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم در مواد تنظیم‌کننده رشد بر مقدار کلروفیلb معنی‌دار بود (جدول۳)، به‌طوری که مصرف اسید آسکوربیک در رقم کردستان مقدار کلروفیلb را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل۱۲). به‌نظر می‌رسد که اسید آسکوربیک با توانایی آنتی‌اکسیدانی خود سبب کاهش خسارت رادیکال‌های آزاد به کلروفیل در کلروپلاست سلول گردیده است. Beltagi (2008) نیز با بررسی اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک برروی نخود در شرایط تنش شوری گزارش نمود که کلروفیل برگ همزمان با افزایش غلظت نمک کاهش یافت، اما اسید آسکوربیک این کاهش را جبران نمود.



شکل۹- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a برگ نخود با اعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

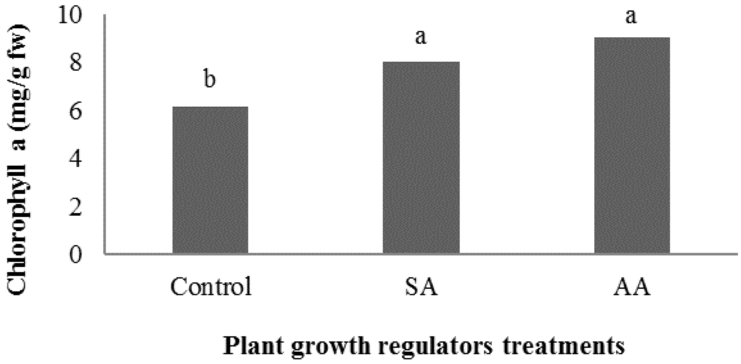
(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 9. Mean comparison of chickpea chlorophyll a affected by drought stress and irrigation treatments levels

(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

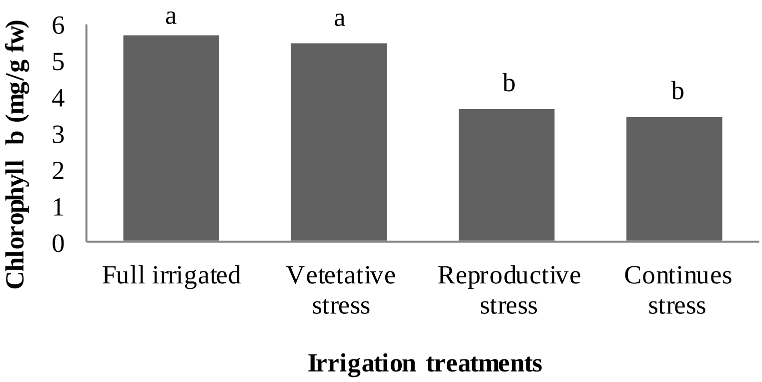


شکل۱۰- مقایسه میانگین کلروفیل a برگ نخود بامصرف اسید سالیسیلیک (SA)، اسید آسکوربیک (AA) و بدون محلول‌پاشی (Control)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 10. Mean comparison of chlorophyll a affected by salicylic acid (SA) and ascorbic acid (AA) application

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.



شکل۱۱- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل b برگ نخود بااعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 11. Mean comparison of chickpea chlorophyll b affected by drought stress and irrigation treatments levels

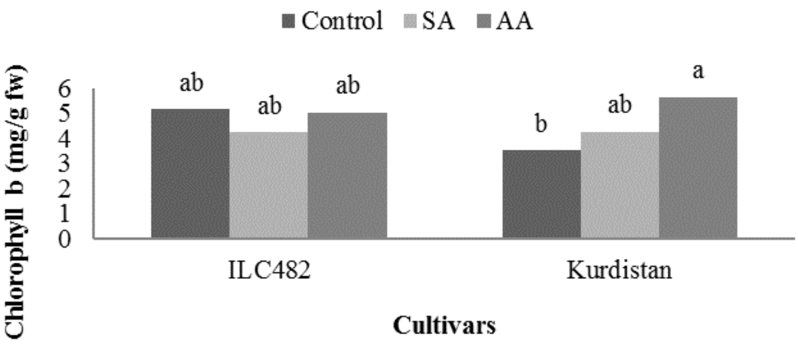
(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

اثر سطوح تنش خشکی و تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان کارتنوئیدها به‌ترتیب در سطوح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر تیمارهای تنش بر میزان کارتنوئیدها نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئیدها در تیمار آبیاری کامل و کمترین مقدارآن در اعمال تنش خشکی در مرحله رشد زایشی حاصل شد (شکل۱۳).

Shamsi (2010) با انجام آزمایشی روی گندم گزارش نمود که اعمال تنش خشکی به‌طور معنی‌داری محتوای کاروتنوئیدها را کاهش داد. مقایسه میانگین اثر مواد تنظیم‌کننده رشد بر میزان کارتنوئیدها گویای برتری اسیدآسکوربیک در افزایش آنها نسبت به شاهد بود (شکل۱۴). براساس گزارش Baghizadeh *et al*, (2009) اسیدآسکوربیک از کاهش کاروتن در شرایط تنش خشکی جلوگیری می‌کند.

گزارش شده است که مصرف اسید آسکوربیک در شرایط تنش شوری محتوای کاروتنوئیدهای برگ نخود را افزایش می دهد (Beltagy, 2008).

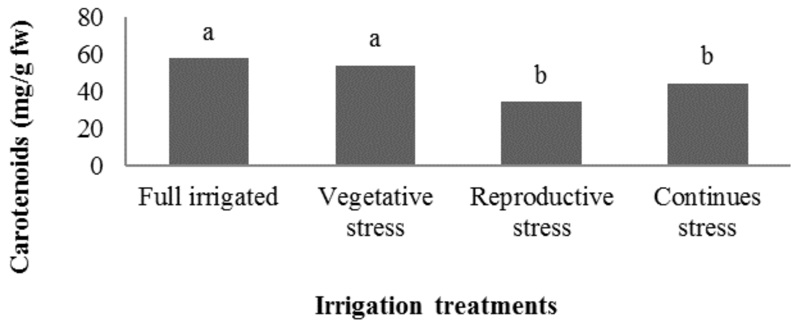


شکل۱۲- مقایسه میانگین مقدار کلروفیل b برگ نخود در دو واریته ILC482 و کردستان با مصرف اسید سالیسیلیک (SA)، اسید آسکوربیک (AA) و تیمار بدون محلول‌پاشی (Control)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 12. Mean comparison of chlorophyll b in two chickpea cultivars of ILC482 and Kurdistan affected by ascorbic acid (AA) application

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.



شکل۱۳- مقایسه میانگین مقدار کارتنوئیدهای برگ نخود تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

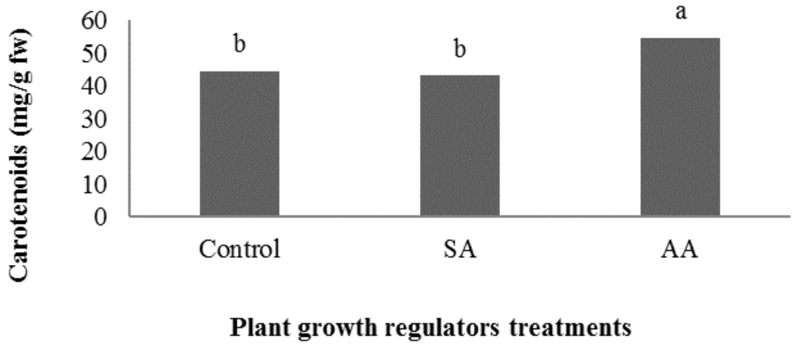
(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 13. Mean comparison of chickpea carotenoids affected by drought stress and irrigation treatments levels

(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.



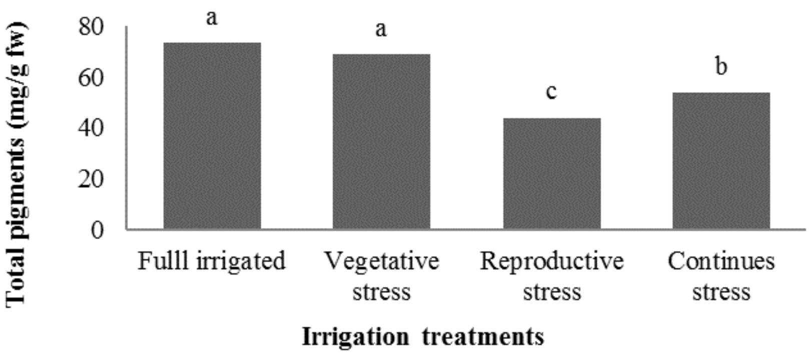
شکل۱۴- مقایسه میانگین کارتنوئیدهای برگ نخود با مصرف اسید سالیسیلیک (SA)، اسید آسکوربیک (AA) و بدون محلول‌پاشی (Control)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 14. Mean comparison of Carotenoids affected by salicylic acid (SA) and ascorbic acid (AA) application

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

مقایسه میانگین‌های اثـر تیمارهـای تـنش برمیـزان کـل رنگیزه‌ها نشان داد که بیشترین میزان رنگیزه‌ها در تیمار آبیاری و کمترین مقدار آن در اعمـال تـنش خشـکی در مرحلـه رشـد زایشی حاصل شد (شکل۱۵). محتوای رنگیـزه‌هـا دراثـر تـنش خشکی کاهش می‌یابد، زیرا که افزایش رادیکـال‌هـای اکسـیژن سبب اکسیداسیون رنگیزه‌های فتوسنتزی شده و نهایتاً منجر به تجزیه بیوشیمیایی آنها مـی‌شـود (Wise & Naylor, 1987). مقایسه میانگین اثر مـواد تنظـیم‌کننـده رشـد بـر میـزان کـل رنگیزه‌ها نشانگر برتری معنی‌دار اسـید آسـکوربیک نسـبت بـه اسید سالیسیلیک و شاهد بود (شکل۱۶). به‌نظـر مـی‌رسـد کـه اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در ممانعـت از تجزیه و اکسیداسیون رنگیزه‌ها نقش مؤثری داشته است.



شکل۱۵- مقایسه میانگین مجموع رنگیزه‌های برگ نخود با اعمال تیمارهای آبیاری و تنش خشکی

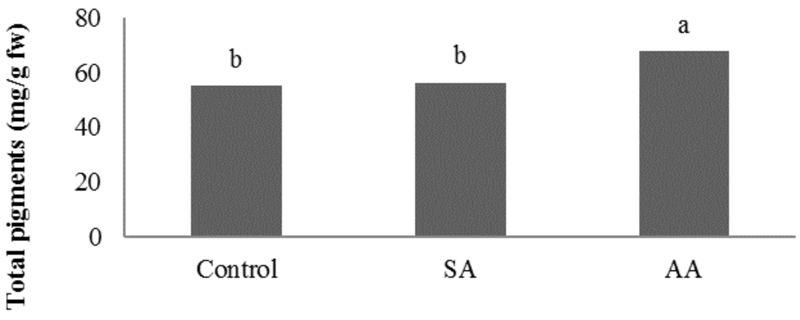
(شاهد: آبیاری کامل، تنش رویشی، تنش‌زایشی و تنش کامل)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 15. Mean comparison of chickpea total pigments affected by drought stress and irrigation treatments

(Control: full irrigated; Vegetative stress: drought stress at vegetative growth stage; Reproductive stress: drought stress at reproductive growth stage; Continues stress: not irrigated at both vegetative and reproductive growth stages)

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.



شکل۱۶- مقایسه میانگین مجموع رنگیزه‌های برگ نخود با مصرف اسید سالیسیلیک (SA)، اسید آسکوربیک (AA) و شاهد (Control)

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Fig. 16. Mean comparison of total pigments affected by salicylic acid (SA) and ascorbic acid (AA) application

Different letters indicate significant differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق، اعمال تنش خشـکی بـرروی گیاه نخود سبب کاهش کلیه صفات مورد بررسی گردید. عمدتاً کاهش در این صفات با اعمال تـنش خشـکی در مرحلـه رشـد زایشی بارز و مشهودتر بود. رقـم ILC482 در کلیـه تیمارهـای تـنش و آبیـاری کامـل، خصوصـاً در شـرایط تـنش خشـکی طولانی‌مدت (تنش کامل) نسبت به رقـم کردسـتان از عملکـرد دانه بیشتری برخوردار بود. همچنین محتوای نسـبی آب بـرگ این رقم نسبت به رقم کردستان بیشتر بود که مزیـت مناسـبی برای کشت در مناطقی است که نخود در پایان فصل بـا کمبـود

آب مواجه می‌شود. از طرفی اسید آسکوربیک با خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی خود در شرایط آبیاری توانست عملکرد دانه رقم ILC482 را نسبت به تیمار بدون محلول‌پاشی ۳۹درصد افزایش دهد. همچنین مصرف اسیدآسکوربیک سبب افزایش وزن خشک بوته و رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. لذا با توجه به نتایج این آزمایش رقم نخود ILC482 و مصرف اسید آسکوربیک به میزان ۱۰۰میلی‌گرم در لیتر را می‌توان برای شرایط آب وهوایی مشابه پیشنهاد نمود.

منابع

1. Ahmad, F., Gaur, P., and Croser, J. 2005. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: R.Singh & P. Jauhar (Eds.). Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement-Grain Legumes, CRC Press USA, 185-214.
2. Ahmadi, A., and Seiocemardeh, A. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and Proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian Journal of Agricultural Science 35: 753-763. (In Persian with English Summary).
3. Al-Hakimi, A.M.A. 2001. Alleviation of the adverse effects of NaCl on gas exchange and growth of wheat plants by ascorbic acid, thiamin and sodium salicylate. Pakistan Journal of Biological Sciences 4(7): 762-765.
4. Baghi-zadeh, A., Ghorbanli, M., Haj, R.M., and Mozafari, H. 2009. Evaluation of interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters in Okra (*Hibiscus escalentus* L.). Research Journal of Biological Sciences 4(4): 380-387.
5. Barth, C.M. De Tullio., and Conklin, P.L. 2006. The role of ascorbic acid in the flowering time and the onset of senescence. Journal of Experimental Botany 57: 1657-1665.
6. Beltagi, M.S. 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of Plant Science 10: 118-123.
7. Black, M. and Prithard, H.W. 2002. Desiccation and survival of plants drying without dying. CABI International. London UK, pp: 413.
8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Journal of Analytical Biochemistry 72: 248-254.
9. Ehdaie, B., and Waines, J.G. 1993. Water requirement and transpiration efficiency of primitive wheats: A model for their use. pp. 187-197. In: A.B. Damania (Ed.). Biodiversity and Wheat Improvement. John Wiley and Sons, New York, USA.
10. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.
11. Farooq, M.W., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 153-188.
12. Gad El-Hak, S.H., Ahmed, A.M., and Moustafa, Y.M.M. 2012. Effect of foliar application with two antioxidants and humic acid on growth, yield and yield components of peas (*Pisum sativum* L.). Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants 4: 318-328.
13. Iqbal, M., and Ashraf, M. 2006. Wheat seed priming in relation to salt tolerance, growth, yield and level of free salicylic acid and polyamines. Annals of Botany 43(4): 250-259.
14. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., AL-Juburi, H.J., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology 11: 100-105.
15. Jalota, S.K., Sood, A., and Harman, W.L. 2006. Assessing the response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield to irrigation water on two soils in Punjab (India): A simulation analysis using the CROPMAN model. Agricultural Water Management 79: 312-320.
16. Jamshidi Moghadam., M., Pakniat, H., and Farshadfar, E. 2007. Evaluation of drought tolerance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) lines using agro-physiologic characteristics. Seed and Plant Improvement Journal 23: 325-342. (In Persian with English Summary).
17. Kim, M.J., Lim, G.H., Kim, E.S., Ko, C.B., Yang, K.Y., Jeong, J.A., Lee, M.C., and Kim, C.S. 2007. Abiotic and biotic stresses tolerance in Arabidopsis over expressing the multi protein bridging factor to (MBFla) transcriptional co activator gene. Biochemical and Biophysical Research Communications 354: 440-446.
18. Kumar Patel, P., Hemantaranjan, A., Sarma, B.K., and Singh, R. 2011. Growth and antioxidant system under drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) as sustained by salicylic acid. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 74: 130-144.

19. Kulshreshtha, S., Mishra. D.P., and Gupta. R.K., 1987. Changes in contents of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast, chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotype of wheat. Photosynthetica 21: 65-70.
20. Maddah, S.M., Fallahian, F., Sabaghpour, S.H., and Chalabian, F. 2006. Effects of salicylic acid on yield, yield components and anatomical structure of chickpea. Journal of Basic Sciences 62: 61-70. (In Persian with English Summary).
21. Mansouri-far, C., Modarres-Sanavy, S.A.M., and Jalali-javaran, M. 2005. Effect of drought stress and nitrogen deficit on quality and quantity soluble proteins in maize (*Zea mays* L.) leaf. Iranian Journal of Agricultural Sciences 36(3): 625-637. (In Persian with English Summary).
22. Mehrabian Moqadam, N., Arvin, M.J., Khajoe Niad, Q.R., and Maqsoudi, K. 2011. The effect of salicylic acid on the growth and yield of maze seed and forage under drought stress in the field. Seed and Plant Production Journal 27: 41-55. (In Persian).
23. Miguel, A., Rosales, Z., Juan, M., Ruiz, A., Hernandez, J., Soriano, T., Castilla, N., and Romero, L. 2006. Antioxidant content and as ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. Journal of the Science of Food and Agriculture 86: 1545-1551.
24. Nayyar, H. 2003. Accumulation of osmolytes and osmotic adjustment in water stressed wheat and maize as affected by calcium and its antagonists. Environmental and Experimental Botany 50: 253-264.
25. Nonami, H., Wu, Y., and Matthewse, M.A. 1997. Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. Plant Physiology 114: 501-509.
26. Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev,.AP., Szalai ,G., and Janda, T. 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 47: 224-231.
27. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 43: 439-463.
28. Rezaeyan-zadeh, E. 2008. The Effects of Supplemental Irrigation on Yield and Yield Components and Growth Indices in Three Chickpea Cultivar (*Cicer arietinum* L.). MSc. Thesis. University of Mashhad, Iran. (In Persian with English Summary).
29. Sainio, P.P., and Rajala, A. 2001. Chlormequat chloride and ethephon affect growth and yield formation of conventional, naked and dwarf oat. Agricultural and Food Science 10: 165-174.
30. Schofold, M.A., Johnson, R.C., Carver, B.F., and Moruhinweg, D.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 526-531.
31. Shaban, M., Mansoori Far, S., Ghobadi, M., and Ashrafi Parchin, R. 2011. Effect of drought stress and starter nitrogen fertilizer on root characteristics and seed yield of four chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Seed and Plant Journal 17: 451-470. (In Persian with English Summary).
32. Shakirova, M.F., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., and Fatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164(3): 317-322.
33. Shalata, A., and Neumann, P.M. 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increases resistance to salt tolerance and reduced lipid per oxidation. Journal of Experimental Botany 364: 2207-2211.
34. Shamsi, K. 2010. The effect of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrate and cholorophyll of bread wheat cultivars. Journal of Animal and Plant 3: 1051-1060.
35. Sheteawi, S.A. 2007. Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascorbic. International Journal of Agriculture and Biology 9: 473-478.
36. Singh, K.B. 1997. Chickpea (*Cicer arientinum* L.). Field Crops Research 53: 161-170.
37. Sliman, Z.T., Refay, Y.A., and Mostafa, K.A. 1994. Effects of cycocel rate and time of application on performance of two bread wheat cultivars. Research Bulletin 44: 5-19.
38. Soltani, A., Khooie, R.F., Ghassemi-Golezani, K., and Moghaddam, M. 2001.Asimulation study of chickpea crop response to limited irrigation in a semiarid environment. Agricultural Water Management 49: 225-237. (In Persian).
39. Sukran, D, Tohit, G., and Ridan, S. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Turkish Journal of Botany 22: 13-17.
40. Ullah, A., Bakht, J. Shafi., M., and Islam, W.A. 2002. Effect of various irrigations levels on different chickpea varieties. Asian Journal of Plant Science 4: 355-357.
41. Xie, Z., Jiang, D., Dai., T., and Cao, W. 2004. Effect of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. Plant Growth Regulation 44: 25-32.

42. Yang, J., Zhang, J., Huang, Z., Wang, Z., Zhu, Q., and Liu, L. 2002. Correlation of cytokinin levels in the endosperms, roots, cell number and cell division activity during endosperm development in rice. Annals of Botany 90: 369-377.
43. Yousefi, B., Kazemi Arbat, H., RahimZadeh Khoyi, F., and Moghadam, M. 1997. Study for some agronomic traits in chickpea cultivars under two irrigation regimes and path analysis of traits under study. Iranian Journal of Agricultural Sciences 28(4): 147-162. (In Persian with English Summary).
44. Wise, R.R., and Naylor, A.W. 1987. Chilling-enhanced photo-oxidation. The proxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultra stracture. Plant Physiology 83: 278-282.
45. Zarghamnejad, S., Rokhzadi, A., and Mohammadi, Kh. 2014.Chickpea response to ascorbic acid foliar application at vegetative and reproductive stages. International Journal of Biosciences 5(7): 166-170.
46. Zeid, F.A., Osama, M., El Rahman, M., Abd Zahraa, F.E., and Ebrahim, A. 2008. Effects of exogenous ascorbic acid on wheat tolerance to salinity stress conditions. Arab Journal of Biotechnology 12: 149-174.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 9, No. 1, 2018, p. 99-117

Effects of ascorbic and salicylic acid foliar application on physiological traits of two chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.) under drought stress conditions

Farjam[1*], S., Siosemardeh[2], A., Kazemi-Arbat[3], H., Yarnia[3], M. & Rokhzadi[4], A.

1. PhD Graduated from Department of Agronomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran, Educator, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Iran
2. Associate Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran
3. Professor, Department of Agronomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4. Assistant Professor, Department of Agronomy, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Received: 21 June 2016
Accepted: 26 September 2016

DOI: 10.22067/ijpr.v9i1.56269

Introduction

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is the third most important food legume. Drought is one of the main constraints restricting the growth and yield of crop plants. Most chickpea producing areas are in the arid and semi-arid zones, and approximately 90% of world's chickpea is grown under rainfed conditions. The water deficit stress condition decrease chickpea yield and produced biomass. If the drought stress lasts long, the plant will face the oxidative damage inevitably, and can be resulted in producing reactive oxygen species (ROS) which are the result of incomplete reduction of oxygen. It is suggested that antioxidants, like salicylic acid (SA) and ascorbic acid (AA), may enhance drought tolerance in plants. Salicylic acid is one of the antioxidants which prevent the high activity of ROS and is introduced as an important messenger molecule in plant responses to different biotic and abiotic stresses. It is reported that ascorbic acid increases the cell division and causes increasing dry and fresh weight of leaf on plants and also antioxidant decreases the damage from oxygen radicals produced due to drought stress. The purpose of this research was to study the effects of SA and AA foliar application on physiological traits of two chickpea genotypes under different drought stress conditions.

Materials & Methods

In this study the effects of drought stress and foliar application of salicylic acid and ascorbic acid on different characteristics of chickpea including seed yield, seed protein content, leaf relative water content and photosynthetic pigments were investigated in Agriculture and Natural Resources Research Station of Sanandaj. The experimental layout was a split plot factorial as RCBD with four replications. Four levels of water stress were considered arrangement in main plots including: Complete irrigation as control, Drought stress at vegetative stage, Drought stress at reproductive stage, and Drought stress at vegetative and reproductive stages. Combination of chickpea cultivars (ILC482 and local landrace) and ascorbic acid (100 mg/l) and salicylic acid (200 mg/l) were allocated to subplot. All the experimental plots from sowing to branching were fully watered to achieve a proper stand establishment. Foliar spraying of the plants was performed when the fifth lateral branch emerged. Plots were irrigated by a drip irrigation system. Soil moisture content was measured by gravimetric method and thus the volume of water applied to each plot was determined. Transparent plastic covers over the plots were used to avoid the effects of periodic rains and then removed when the rain stopped. Accumulated rainfall and irrigation were determined in four levels of irrigation. The measured data were analyzed statistically by analysis of variance operations using the SAS computer package version 9.1. Means of treatments were compared by Duncan's multiple range test at the 0.05 level of significance.

Results & Discussion

Results showed that drought stress reduced seed yield, biomass, hundred-seed weight, relative water content, leaf protein content, concentration of chlorophyll a and b, carotenoids and total chlorophyll. The

***Corresponding Author:** siamakfarjam@yahoo.com

mean seed yield of chickpea under the stress treatments of vegetative, reproductive and continues stress was decreased at the ratios of 53, 63 and 68% respectively as compared with control. In well watered conditions, photosynthesis rate and assimilates production are increased which consequently results in the elevation of seed yield through increasing in seed filling rate and seed weight. Moreover comparison between the recorded yields in vegetative and reproductive stress treatments revealed that the yield reduction in reproductive stress treatment was more pronounced compared to vegetative stress, indicating the vulnerability of chickpea yield to terminal drought stress prevailing and occurring at reproductive stage of chickpea development. Terminal drought stress is considered as a primary constraint to chickpea productivity in countries such as Iran, where the crop is generally sown after the main rainy season and grown on stored soil moisture. The results indicated that ascorbic acid application resulted in the increase of seed yield, chlorophyll a, carotenoids and total chlorophyll. Results also indicated that application of salicylic acid increased the amount of chlorophyll a content. Whereas hundred-seed weight and leaf relative water content were not affected by growth regulator substances.

Conclusions

Results showed that drought stress decreased agronomic and physiological characteristics in this study. Generally it was concluded that SA and AA have the potential of diminishing injury effects of drought stress and promoting crop productivity. Results also indicated that application of ascorbic acid and ILC482 cultivar are suitable in climatic conditions of Sanandaj.

Key words: Carotenoid, Chlorophyll, Growth regulator substances, Seed yield